

Contribution à l'Étude du Romarin (*Rosmarinus officinalis. L. Labiées*)

Travail du Laboratoire de Matière Médicale de la Faculté
de Médecine et de Pharmacie

THÈSE

présentée et publiquement soutenue devant la Faculté de Médecine Générale et Coloniale
et de Pharmacie de Marseille

Le 10 Juillet 1953

P A R

Mademoiselle Simone **BALANSARD**

née le 8 Février 1903, à Marseille

Pharmacien, Licenciée en Droit

POUR OBTENIR LE GRADE DE DOCTEUR EN PHARMACIE
(Diplôme d'Université)

Examineurs de la Thèse	{	MM. DELPHAUT, <i>Président</i> PELLISSIER GREBUS	{	Assesseurs
---------------------------	---	--	---	------------



Digitized by the Internet Archive
in 2026

FACULTÉ MIXTE
DE
MEDECINE GENERALE ET COLONIALE ET DE PHARMACIE
DE MARSEILLE

Contribution à l'Étude du Romarin (*Rosmarinus officinalis. L. Labiées*)

Travail du Laboratoire de Matière Médicale de la Faculté
de Médecine et de Pharmacie

THÈSE

présentée et publiquement soutenue devant la Faculté de Médecine Générale et Coloniale
et de Pharmacie de Marseille

Le 10 Juillet 1953

P A R

Mademoiselle Simone BALANSARD

née le 8 Février 1903, à Marseille

Pharmacien, Licenciée en Droit

POUR OBTENIR LE GRADE DE DOCTEUR EN PHARMACIE
(Diplôme d'Université)

Examineurs de la Thèse	{	MM. DELPHAUT, <i>Président</i> PELLISSIER GREBUS	{	Asseseurs
---------------------------	---	--	---	-----------

Imprimerie MINERVA
20, La Canebière, 20
— MARSEILLE —

PERSONNEL ENSEIGNANT

DE LA FACULTE MIXTE DE MEDECINE GENERALE ET COLONIALE ET DE PHARMACIE DE MARSEILLE

Doyen : G. MORIN

Assesseur : J. DELPHAUT

Doyen Honoraire : L. IMBERT

Professeurs	}	MM. AUBARET, AUDIBERT, BELTRAMI, BREMOND, GAUJOUX, GABRIEL, HECKENROTH, JOYEUX, OLMER, RIMATTEI, ROCHE, ROGER.
Honoraire		

Chargé de Cours Honoraire : M. TIAN

Secrétaire : J. COMTE

Bibliothécaire : M^{lle} PERRIN

Professeurs

Anatomie	MM. GRISOLI
Anatomie Pathologique	N...
Bactériologie et Pathologie Générale	N...
Chimie Analytique et Hydrologie	ARNOUX
Chimie Médicale	DERRIEN
Chimie	DUMAZERT
Clinique Chirurgicale	FIOLLE
Clinique Chirurgicale	MOIROUD
Clinique Chirurgicale Infantile et Orthopédique	SALMON
Clinique Chirurgicale, Thérapeutique et Chirurgie Expérimentale	DE VERNEJOL
Clinique Dermato-Syphiligraphique	CHARPY
Clinique Exotique	BLANC
Clinique des Maladies du Système Nerveux	POURSINES
Clinique Médicale	MATTEI
Clinique Médicale	POINSO
Clinique Médicale Thérapeutique	OLMER
Clinique des Maladies des Voies Digestives et de la Nutrition	MONGES
Clinique Médicale Infantile	GIRAUD
Clinique Neuro-Chirurgicale	PAILLAS
Clinique Obstétricale et Gynécologie	N...
Clinique Ophtalmologie	JAYLE
Clinique Urologique	CHAUVIN
Histoire Naturelle	N...
Histologie	ROMIEU
Hygiène et Médecine Préventive	VIOLLE
Matière Médicale	BALANSARD
Médecine Légale et Médecine du Travail	MOSINGER
Parasitologie	SAUTET
Pathologie Chirurgicale	CARCASSONNE
Pharmacologie	F. MERCIER
Pharmacie Chimique et Toxicologie	VIGNOLI
Pharmacie Galénique	DELPHAUT
Physiologie	MORIN
Physique Médicale	DUBOULOZ
Thérapeutique	PIERI

Maitres de Conférence Agrégés

MM. BOURRET, DONNET GASTAUT, GREBUS, J. MERCIER, MOURGUE,
PELLISSIER, PICARD, RANQUE, ROUX.

Agrégés en exercice

MM. APPAIX, BERNARD, CREMIEUX, GRANJON, HENRY, JOUVE, LAMY,
LAVAL, LENA, MARONNEAUD. MONGES Henri, OLLIVIER, OUR-
GAUD, PAOLI, RAYBAUD, SERMENT, VAGUE.

Agrégés libres

MM. AUDIER, BERTHIER, BRAHIC, CHOSSON, DOR, FIGARELLA, IMBERT,
RECORDIER.

Chargé des fonctions d'Agrégé

Anatomie Pathologique M. PAYAN



A Monsieur le Professeur J. DELPHAUT

qui, après avoir participé à l'élaboration de ce travail, m'a fait l'honneur d'en présider la soutenance.

Qu'il soit assuré de ma gratitude et remercié pour les témoignages d'amitié qu'il n'a cessé de me prodiguer en toutes occasions.

A mon Jury de Thèse.

Très respectueusement.

Aux miens,

A mes amis.

Historique et Introduction

Le Romarin est un arbrisseau de la famille des Labiées fort commun en Provence et sur le pourtour du bassin méditerranéen. C'est l'ornement des collines et côteaux calcaires ou dolomitiques dont Madame de Sévigné a décrit l'épouvantable beauté dans la région marseillaise. Son odeur agréable évoque, de loin il est vrai, celle de l'encens d'où le nom d' « Encensier » que donnent encore les vieux bergers de Provence à « l'herbe aux couronnes ».

Ses fleurs petites et délicatement teintées de bleu ou de violet forment avec celles du Ciste la parure de nos garrigues et c'est pourquoi on les appelle rose marin. Le pays de Mistral n'est pas l'unique habitat du Romarin, que l'on retrouve en Méditerranée sur les côtes marocaine, ibérique, italienne, hellénique. On l'y désigne sous les noms de Libanotis et Anthos en Grèce, de Tresmarino ou Rosmarino en Italie, de Romero en Espagne. Ajoutons que d'après BONNIER (2), il pousserait dans le sud-ouest de l'Asie.

Très en honneur chez les Grecs et les Romains, c'était un emblème décoratif pour le culte et les triomphes à la manière du Laurier (14). Ses vertus thérapeutiques dans l'antiquité paraissent assez difficiles à préciser car il semble régner une certaine confusion sur les plantes employées sous ce nom.

MATTHIOLE (11) nous indique qu'il existe deux espèces de Romarin, l'un fertile donnant une graine qu'on appelle Cachrys, semblable à celle du Spondylium, portant des feuilles ressemblant à celles du fenouil et dont la racine blanche et grande sent l'encens : l'autre stérile, lui ressemblant, mais ne produisant ni tige, ni fleur, ni graine. Il y ajoute le Romarin des jardins « duquel on fait chapeaux et bouquets » qui guérit la jaunisse et est bon « aux froides maladies de l'estomac, à la passion coeliaque, au vomissement de la viande ».

Jacques DALECHAMP et Jean des MOULINS (7), dans leur Histoire générale des drogues, apportent certaines précisions. « Le Rosmarin Cachrys a la graine comme celui du Seseli éthiopique, la tige haute d'une coudée, des feuilles plus grosses que celles du Fenouil, de couleur vert-pâle. Aucuns l'ont pris pour le Seseli de Marseille et ils sont bien semblables en vertu ». Le Rosmarinum ou Libanotis prima de Théophraste, ayant les feuilles comme l'Ache, correspond au Daucus second de Matthiole. Le vrai Romarin

paraît bien être le Romarin bouquetier ou Romarin des jardins, dont les auteurs prétendent « qu'il est bon aux defluxions de la tête, au haut-mal, aux membres sujets à s'engourdir, à la léthargie, à la paralysie. Cuit en vinaigre et vin âpre il arrête les defluxions des gencives et des dents; la poudre consolide les plaies fraîches ».

A ces espèces les auteurs ajoutent le Romarin sauvage de Bohême à fleurs jaunes et odeur de citron, à baies rouges « que Lobel appelle Ledon second ayant les feuilles de Romarin » et que l'on sait être aujourd'hui le Ledon des Marais ou Romarin sauvage : *Ledum palustre* L., de la famille des Ericacées.

Leonarth Fusch (9) nous dit : « L'Ibanotis en grec se nomme es boutiques et en latin Rosmarinus. En français Rosmarin. On la nomé Libanotis pource qu'elle ha odeur d'encens ». La description qu'il en donne correspond au Romarin vrai « qui croist de son bon gré au pays de Narbonne et en si grande abondance que ceux du dict lieu ne bruslent quasi autre boys ». Il y a là cependant confusion fâcheuse de termes qui retentissent sur les usages donnés.

En gros, de Dioscoride en passant par Galien jusqu'aux auteurs de la Renaissance, on reconnaît au Romarin une efficacité constante contre la jaunisse, à laquelle l'Ecole de Salerne (8) ajoute des vertus carminatives, excitantes, et même exhilarantes.

Confortat stomachum, tollit nocumenta tenesmi

Anthos, exhilarat, membra sapore juvat.

Dans la classification d'Ettmüller, le Romarin figure parmi les plantes aromatiques, plantes qui jouissent de vertus vulnéraire, céphalique, stomachique, nervine, utérine et cordiale. Dans la division des plantes médicinales selon Hermann Boerhaave, c'est aux végétaux aromatiques et cordiaux, bons contre l'hydropisie qu'on la rapporte.

Suivant les adeptes de la médecine hermétique, le Romarin, plante dominée par le Soleil, conviendrait aux bilieux dominés par un mal hépatique et rénal. Son effet serait de rétablir les fonctions générales, l'équilibre, la circulation et l'altération des humeurs (12).

Plus près de nous CAZIN (3), grand adepte de nos plantes indigènes, s'exprime ainsi à son égard : « Le Romarin est aromatique et stimulant ; sa diffusibilité agit sur tout le système nerveux d'une manière énergique. On l'a vanté contre la paralysie, la dyspepsie, l'asthme, les catarrhes chroniques, les vomissements spasmodiques, les affections hystériques, l'amenorrhée, la leucorrhée, les engorgements des viscères abdominaux, les scrofules, etc... ». Le Romarin sauvage (que nous savons être *Ledum palustre* L.) convient plus spécialement comme léger narcotique dans quelques maladies convulsives et spasmodiques (asthme, coqueluche).

L'infusion de sommités fleuries de cette plante, ajoute l'auteur, m'a été fort utile dans divers cas de fièvres mucosodynamiques, que l'on désigne aujourd'hui par le terme assez vague de fièvres typhoïdes, appliqué sans distinction à des variétés que l'on est ensuite obligé de distinguer par le mot forme. Je regarde le Romarin comme un des meilleurs stimulants antispasmodiques que l'on puisse employer dans les fièvres typhoïdes. Je

l'ai adopté définitivement dans le traitement de ces fièvres surtout lorsque les symptômes ataxiques dominent.

VANDERMONDE dit qu'un demi-gros (2 grs) d'extrait auquel on ajoute III à IV gouttes d'huile essentielle, en réitérant plusieurs fois cette dose, est un remède sûr et éprouvé contre le ver solitaire ».

A propos de l'essence on trouve dans le Dictionnaire de d'ORBIGNY (13) « qu'elle formait la base d'une eau de toilette autrefois fort recherchée, qui portait le nom d'Eau de la reine de Hongrie, et à laquelle on attribuait des propriétés précieuses, entr'autres celle de conserver d'une manière merveilleuse la fraîcheur du teint et la douceur de la peau ».

« Elle passait pour avoir guéri une princesse goutteuse et paralytique au point de lui donner l'aspect d'une jeune fille et de la faire demander en mariage par un roi de Pologne bien qu'elle fut plus que septuagénaire » (10).

Le Romarin n'est pas seulement une plante médicinale mais encore un condiment très apprécié en Provence et dans certaines régions d'Italie. Très visité par les abeilles en raison de sa floraison quasi-permanente, il conduit à un miel parfumé assez improprement baptisé « Miel de Narbonne ».

Plan du Travail

Voici le plan que nous avons adopté pour exposer les recherches qui font l'objet de ce travail :

1^{re} partie : Étude botanique subdivisée en :

1. - Description morphologique.
2. - Description anatomique de la feuille.
3. - La drogue.

2^e partie : Étude chimique comportant les recherches personnelles sur la composition de cette drogue.

3^e partie : Recherche pharmacodynamique en utilisant les principes actifs isolés dans le précédent chapitre.

4^e partie : Conclusion et Index bibliographique.

ÉTUDE BOTANIQUE

I. — DESCRIPTION MORPHOLOGIQUE

LA PLANTE.

C'est un arbrisseau ligneux, qui peut atteindre un mètre et plus de hauteur. Spontané, il s'installe dans les endroits arides de la garrigue.

LA FLEUR.

Ses inflorescences en grappes courtes, disposées à l'aisselle des feuilles, sont formées de fleurs à calice bilabié et corolle longuement tubuleuse élargie au sommet en deux lèvres ; la lèvre supérieure bifide forme un casque tandis que l'inférieure trilobée porte un lobe médian très large et concave. Leur couleur est bleu-pâle ou lilas dans l'ensemble, mais maculée de petites taches violettes à l'intérieur. Deux demi-étamines fertiles (c'est-à-dire deux étamines saillantes, munies à la base d'une petite dent et terminées par une anthère uniloculaire) forment l'androcée. Le gynécée bicarpellé est surmonté d'un style unistigmaté qui se développe en général après les étamines. Il donnera naissance à un tetrakène brun-foncé dont chaque unité contient une graine sans albumen à cotylédons bombés.

LA FEUILLE.

La feuille sessile, coriace, persiste pendant tout l'hiver. Étroite, entière, enroulée sur les bords, verte et comme chagrinée sur la face supérieure, blanchâtre et cotonneuse sur la face inférieure, elle mesure de trois à huit centimètres de longueur et en principe de cinq à huit millimètres de large, en principe peut-on dire car le plus souvent la feuille figure une aiguille aplatie.

LES VARIETES.

On connaît deux variétés de romarin :

- a) - la variété *tenuifolium* G.B. à feuille étroite.

Synonyme : *Rosmarinus tenuifolium* Jordan et Fourreau.

La feuille a un millimètre de large. On rencontre cette variété dans le midi de la France.

- b) - la variété *latifolium* G.B.

Synonymes : *Rosmarinus latifolium* Mill.

Rosmarinus flexuosus Jordan et Fourreau

à feuilles larges, vert-clair au-dessus, très tomenteuses au-dessous et dont les rameaux lâches plus ou moins contournés peuvent devenir pleureurs. Cette variété semble être cultivée sous le nom de Romarin pleureur. On la rencontre dans les Pyrénées-Orientales, le Dauphiné et en Provence également.

II. — DESCRIPTION ANATOMIQUE DE LA FEUILLE

En coupe, la feuille présente une structure symétrique, bifaciale.

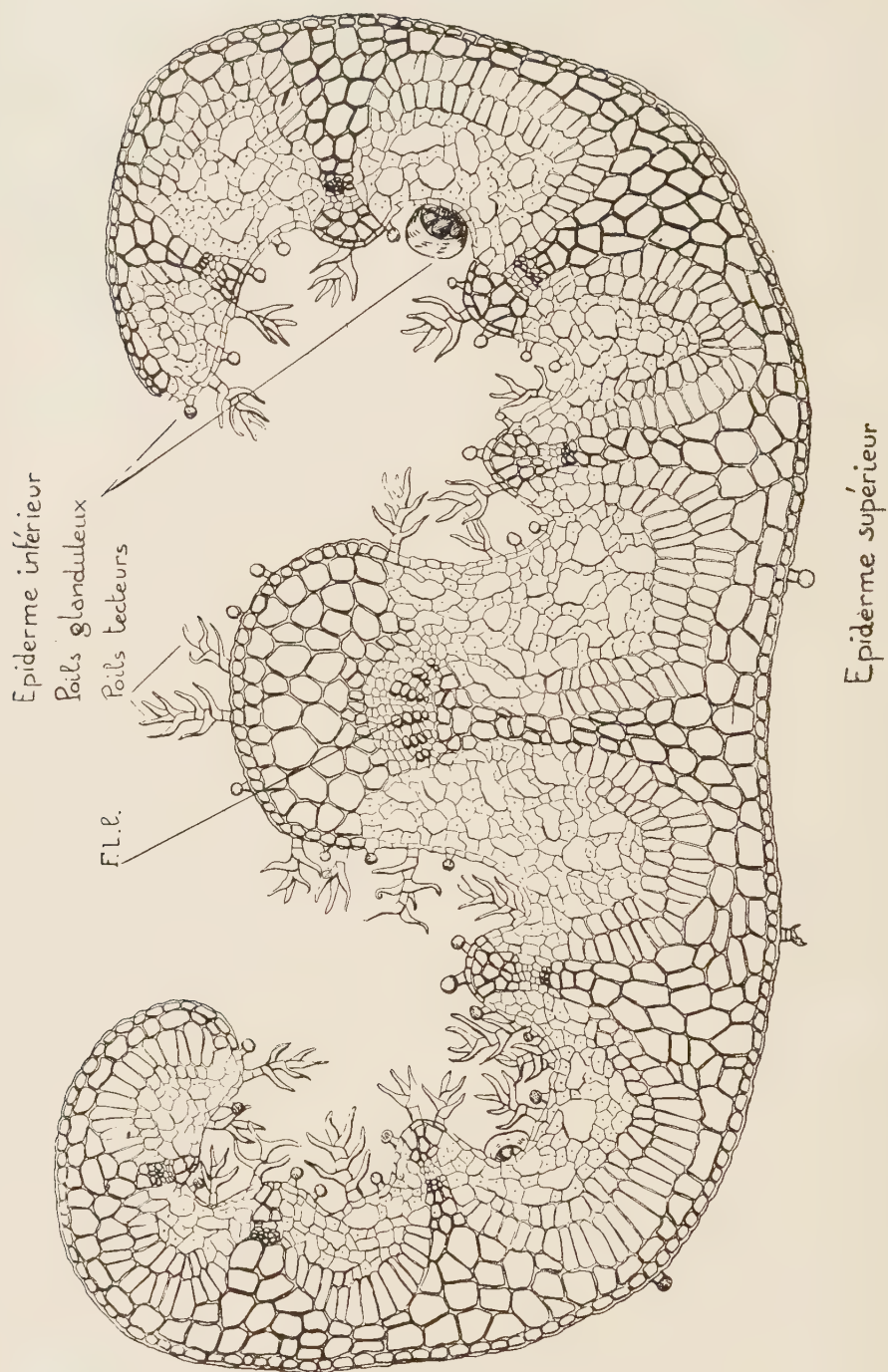
Épiderme supérieur : Il est constitué de cellules tabulaires assez fortement cutinisées et montre des poils tecteurs simples, pluricellulaires, mais unisériés.

Épiderme inférieur : Au niveau de l'épiderme inférieur peu cutinisé, riche en stomates, on constate la présence de nombreux poils qui confèrent à la face inférieure du limbe son aspect cotonneux. Ces poils sont de deux sortes :

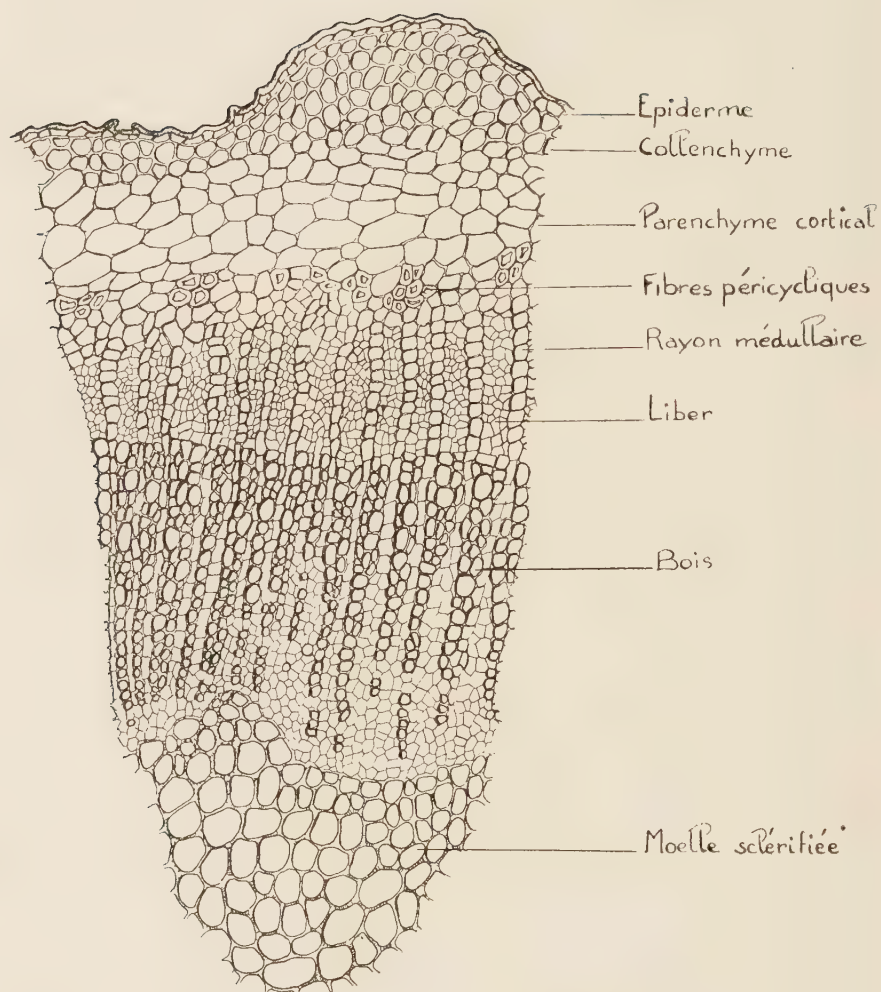
- a) - Poils tecteurs pluricellulaires rameux type « candélabre » ;
b) - Poils sécréteurs : les uns massifs présentant une tête octocellulaire portée par une cellule « socle » enchassée entre les cellules épidermiques ; les autres formés par un pied pluricellulaire, unisériel, terminé par une petite glande. Ces derniers sont les plus nombreux.

Mésophylle : Le mésophylle comprend : un hypoderme placé sous l'épiderme supérieur, formé de larges cellules ; puis un parenchyme palissadique à deux assises de cellules gorgées de chloroplastes. Le parenchyme lacuneux qui atteint l'épiderme inférieur comprend des cellules irrégulières délimitant d'étroites lacunes en communication avec les stomates.

Le faisceau : La feuille est penninerve. Au niveau de la nervure médiane fort développée et saillante sur la face inférieure, le faisceau livero-ligneux est abrité dans sa région dorsale par un arc de cellules collenchymateuses édifiant un solide tissu de soutien.



FEUILLE DE ROMARIN



TIGE DE ROMARIN (Détail)

III. — LA DROGUE

La partie employée, nous dit le Codex, est représentée par les « sommités fleuries ». Il en donne (5) la description suivante : « La tige et les « rameaux sont subarrondis, les feuilles opposées linéaires, coriaces, à « bords fortement réfléchis ; la face supérieure de la feuille est glabre et « chagrinée, de teinte vert-sombre, et la face inférieure blanchâtre est « parcourue par une nervure médiane saillante. L'inflorescence spiciforme « porte des fleurs bilabiées, à corolle très irrégulière, d'un blanc lilas, « maculé intérieurement de petites taches violettes ; le lobe médian de la « lèvre inférieure est rabattu et grand ; il n'y a que deux étamines et « chacune d'elles ne possède qu'une loge d'anthère.

« Le Romarin possède une odeur et une saveur fortement aromatiques. »

ÉTUDE CHIMIQUE

Le Romarin est une plante à essence. Aussi ne faut-il pas s'étonner si cette dernière a donné lieu à de nombreux travaux qu'il n'est pas dans notre intention d'énumérer ici. Nous nous bornerons à son sujet à indiquer qu'elle est officinale et que PERROT, dans son « Traité des Matières usuelles du Règne végétal », donne à son sujet les indications suivantes :

« L'essence est de composition variable avec les régions d'origine ; elle est obtenue par distillation des rameaux fleuris dont le rendement est 2 p. 100 avec les feuilles sèches et 1,4 p. 100 avec les fleurs.

« L'essence de Romarin française répond aux normes suivantes :

D = 0,900 — 0,920

D = + 5° à + 15°

« 1 partie d'essence est soluble dans 1/2 partie d'alcool à 90°. C'est un liquide incolore renfermant :

80 p. 100 de pinène droit et camphène

4 à 5 p. 100 de camphre droit et gauche

11 à 15 p. 100 de bornéol droit et gauche

5 p. 100 d'acétate de bornyle. »

Les renseignements sur les autres constituants de la drogue sont par contre assez minces. « Avec du tanin, la plante renferme un principe amer non défini », ajoute PERROT.

Par ailleurs, YOSHIMURA et TRIER mentionnent l'existence de choline et BALANSARD celles d'un Stérol, de choline et l'absence de lactone.

Récemment, enfin, POURRAT et LE MEN (15), étudiant la répartition de l'acide ursolique chez les Labiées, en ont estimé la teneur chez le Romarin, qui est de 4,3 % de produit brut et 2,8 % de produit pur.

Comme ces éléments ne permettent guère d'expliquer les propriétés thérapeutiques reconnues au Romarin par la tradition ou l'empirisme, nous avons essayé d'en aborder l'étude.

Recherches Personnelles

I. — RECHERCHES PRELIMINAIRES

La décoction de feuilles de Romarin donne avec le perchlorure de fer un précipité verdâtre (tanin), précipite par l'acétate, puis le sous-acétate de plomb. Après précipitation plombique, elle réduit la liqueur de Fehling (glucides). L'alcool chlorhydrique la précipite fortement (mucilages), l'iode ne fournit pas de coloration (absence d'amidon). Après précipitation plombique, élimination du plomb et concentration, on obtient en milieu fortement chlorhydrique un précipité par le Réactif de Bouchardat (amines, etc.).

II. — PRINCIPES MINERAUX

L'analyse élémentaire des cendres obtenues suivant les méthodes classiques montre la présence des éléments suivants : Na, K, Ca, Mg, Fe, SiO_2 , Cl_2 , PO_4 , NO_3 , SO_4 .

III. — ACIDES ORGANIQUES

La recherche des acides fixes se pratique ainsi :

La liqueur est précipitée par une solution d'acétate neutre de plomb en quantité juste suffisante. On filtre et dans le filtrat on ajoute un excès de sous-acétate de plomb et 6 volumes d'alcool à 95°. On obtient un nouveau précipité. Les précipités plombiques mis en suspension dans l'eau sont décomposés par SH_2 . Les liqueurs aqueuses après décoloration par l'Acticarbon sont concentrées. On recherche sur le premier précipité plombique les acides oxalique, tartrique, citrique, malique, fumarique, succinique et

sur le deuxième des acides glycolique et glycérique par les méthodes classiques (1).

On a pu constater l'absence des acides oxalique, tartrique, succinique et l'existence des acides citrique, glycolique, glycérique, ces derniers étant abondants.

IV. — LE TANIN

La méthode utilisée pour son extraction est la suivante :

La drogue fraîche est épuisée par l'eau bouillante. Après concentration, la liqueur aqueuse est soumise à des précipitations fractionnées par l'acétate neutre de plomb. On rejette le premier précipité. Les autres réunis sont lavés à plusieurs reprises à l'eau et décomposés dans l'eau bouillante par SH_2 . Après filtration et évaporation au bain-marie, le magma est repris par l'alcool et précipité par l'éther.

On obtient ainsi une poudre brune, astringente, qui en solution aqueuse donne avec le perchlorure de fer une coloration verte (en milieu dilué) ou un précipité verdâtre (en milieu concentré), avec le bichromate de potassium un précipité brun se formant lentement, avec l'eau de chaux un précipité brun. Avec le réactif de Stiasny (formol chlorhydrique) on obtient à chaud un précipité abondant au bout de trente minutes, mais incomplet. Par décomposition pyrogénée on peut mettre en évidence l'existence de Pyrocatéchol et Pyrogallol.

Ces réactions signent le fait que l'on a affaire à un tanin mixte.

V. — RECHERCHE DES ALCALOÏDES

500 grammes de drogue sèche sont traités à l'ébullition durant trente minutes par une liqueur chlorhydrique à 1 p. 100. Après filtration et concentration, on divise la liqueur en deux parties.

La première est alcalinisée par le carbonate de soude et extraite à l'éther, à l'ampoule à décantation, opération longue à cause des émulsions qui se forment. L'éther distillé, le résidu est repris par l'eau chlorhydrique. On filtre et reépuise par l'éther en milieu carbonate de soude. Après évaporation de l'éther reprise par 50 cm³ environ d'eau chlorhydrique. On n'obtient pas de précipités avec les réactifs de Bouchardat, et silicotungstique.

La deuxième fraction est traitée par la magnésie. On fait une pâte qu'on laisse sécher lentement à l'air, puis sur radiateur. Reprise par l'alcool à 95° ; distillation ; reprise par l'eau chlorhydrique. Puis en milieu ammo-

niacal épuisement à l'ampoule par l'ester-acétique. Distillation. Evaporation à sec. Dissolution du très faible résidu dans 30 cm³ d'eau chlorhydrique. Les réactifs de Bouchardat et silicotungstique ne fournissent pas de précipités.

Il n'existe donc pas d'alcaloïde dans la drogue.

VI. — RECHERCHE DES HETEROSIDES

Quoique la méthode de Bourquelot infirme l'existence d'hétérosides dans la drogue, nous avons recherché leur présence par voie chimique.

Technique employée : 10 kgs de drogue sèche sont lixiviés par l'alcool à 95°. Après distillation du solvant, on obtient un extrait fortement chlorophyllien. Celui-ci est épuisé à plusieurs reprises par l'eau bouillante. On filtre sur coton.

A/ TRAITEMENT DE LA FRACTION INSOLUBLE DANS L'EAU

La fraction insoluble dans l'eau est dissoute dans l'alcool à 95° à chaud et décolorée la majeure partie par le noir diamant. Après forte concentration, on obtient une liqueur qui ne précipite pas sensiblement par ajout d'un grand excès d'éther.

La plupart des hétérosides précipitant dans ces conditions, ceci laisse entendre qu'il n'existe probablement pas d'hétéroside insoluble dans l'eau.

B/ TRAITEMENT DE LA FRACTION AQUEUSE

La fraction aqueuse fortement concentrée et portée à la glacière durant plusieurs jours ne laisse rien cristalliser. Après nouvelle concentration, on fait une pâte à l'oxyde de zinc auquel on ajoute comme ballast de la terre d'infusoire. On sèche à l'étuve à 70°. On reprend à chaud par l'alcool à 95°, distille à sec, reprend par un minimum d'eau et effectue une nouvelle pâte, qu'on sèche comme précédemment. Nouvel épuisement par l'alcool à 95° évaporation à sec, conduisent à un extrait purifié.

A partir de cet extrait on pratique certains essais : Adsorption sur charbon - Précipitations plombiques - Relargages - Epuisements par divers solvants : Acétone, Acétates d'éthyle et de méthyle, etc...

Par relargage au moyen de sulfate d'ammonium, on obtient une masse moyennement importante. On élimine le sulfate d'ammonium par reprise à l'alcool, distille celui-ci, reprend par l'eau et relargue à nouveau.

Le sulfate d'ammonium éliminé par reprise à l'alcool, on obtient après distillation un magma qu'on fractionne en une partie soluble dans l'acétone

à chaud et l'acétate de méthyle et une autre fraction insoluble dans ces solvants, soluble dans l'alcool.

Ces deux fractions sont purifiées séparément de la même manière (pâte ZnO - terre d'infusoire), reprise à l'alcool à 95° et décoloration partielle par le noir diamant (Acticarbène SSA).

La fraction soluble dans l'acétone à chaud est lavée à l'ester acétique qui ne la dissout pratiquement pas, reprise par l'alcool absolu et précipitée par l'éther.

La fraction insoluble dans l'acétone à chaud est dissoute dans l'alcool à 95° à chaud, puis après refroidissement précipitée par l'éther (on rejette les premières fractions précipitées).

On obtient après dessiccation à l'étude à 70° deux corps fournissant une poudre beige, amère en petite quantité, ce qui est compréhensible, les méthodes par relargage amenant dans la majorité des cas des pertes notables. Ces corps que pour l'instant nous dénommerons A et B présentent les caractères suivants :

SOLUBILITES

Corps A

Soluble dans l'eau, mieux à chaud, soluble dans l'alcool, l'acétate de méthyle, assez soluble à froid dans l'acétone, mieux à chaud, très peu soluble dans l'acétate d'éthyle, insoluble dans le chloroforme et l'éther.

Corps B

Très soluble dans l'eau, soluble dans l'alcool, peu soluble dans l'acétate de méthyle, insoluble dans l'acétone, le chloroforme, l'éther.

REACTIONS

Corps A

En solution aqueuse, ne présente qu'un pouvoir aphrogène très faible en milieu acide, plus marqué en milieu neutre.

Par l'eau de baryte, ne donne ni coloration, ni précipité.

Le perchlorure de fer ne fournit pas de coloration.

En milieu dilué, les acétate et sous-acétate de plomb ne donnent lieu à aucune précipitation. En milieu concentré, il y a relargage d'un précipité soluble dans l'alcool.

Le chlorure de sodium à saturation n'amène aucun relargage.

Le sulfate d'ammoniaque, par contre, même en milieu assez dilué, fournit un relargat abondant.

En milieu chlorhydrique et concentré, on obtient un louche avec les réactifs de Bouchardat et silicotungstique.

La liqueur de Fehling est réduite légèrement avant hydrolyse, fortement après hydrolyse.

Corps B

En solution aqueuse, présente un pouvoir aphrogène important diminué en milieu acide. Pas de coloration rouge avec SO_4H_2 (R. de Rosoll).

La détermination du pouvoir hémolytique suivant la technique ordinaire en utilisant des hématies de moutons montre un pouvoir faible, de l'ordre de 250.

L'eau de baryte n'amène ni coloration, ni précipité.

Le perchlorure de fer ne donne pas de coloration.

Les acétate et sous-acétate de plomb ne donnent lieu à aucune précipitation, sauf en milieu concentré où un relargage se produit.

Le chlorure de sodium à saturation, le sulfate de magnésie ne provoquent aucun relargage. Le sulfate d'ammoniaque relargue le corps, mais d'une façon incomplète, ce qui laisse entendre que de grosses pertes ont eu lieu au cours de l'extraction.

En milieu chlorhydrique, les réactifs de Bouchardat et silicotungstique provoquent une précipitation.

La liqueur de Fehling n'est pas réduite avant hydrolyse et fortement après hydrolyse.

HYDROLYSE.

Sur 2 grammes de chacun des corps, on a pratiqué une hydrolyse sulfurique (SO_4H_2 à 1 p. 100) à chaud, sous réfrigérant durant une demi-heure.

Dans les deux cas, au cours de l'hydrolyse se forme un précipité noir, tandis qu'une odeur phénolique perceptible se dégage.

Après filtration, on obtient une liqueur qui dans le cas du corps A donne un louche avec le réactif de Bouchardat, dans le cas du corps B, un précipité.

Dans le cas du corps A, la liqueur est extraite à fond par l'éther. Celui-ci, après lavages répétés avec une solution saturée de chlorure de sodium, séchée sur sulfate de soude anhydre et distillé abandonne un résidu brun très clair, pâteux, présentant une réaction fortement acide, décomposant le bicarbonate de soude avec effervescence et réduisant le permanganate de potasse à froid.

Ceci laisse entendre qu'il s'agit d'un acide.

Dans le cas du corps B, la moitié de la liqueur saturée de chlorure de sodium et en milieu légèrement alcalin (CO_3Na_2) est extraite par l'ester-acétique. Celui-ci abandonne après distillation un faible résidu qui en milieu fortement acide précipite par les réactifs de Bouchardat et silicotungstique.

Dans les liqueurs aqueuses, après neutralisation par CO_3CA et décoloration à l'Acticarbène SSA, on recherche les glucides :

La liqueur de Fehling provoque une forte réduction.

Le réactif de Bertrand donne une coloration rose, celui de Bial une coloration vert-olive. Le réactif à la phloroglucine ne fournit qu'une coloration jaune faible. La réaction de Selivanoff ne donne qu'une coloration rose à peine marquée.

Avec la phénylhydrazine, on obtient une osazone en gerbe P.F. = 212°.

Ces réactions laissent penser que dans les deux cas le glucide est du glycone.

RECHERCHE DE L'AZOTE.

Elle a été pratiquée par la méthode de Castellana.

Dans le cas du corps A, cette recherche a conduit à un résultat négatif; dans le cas du corps B à un résultat positif.

CONCLUSION

L'étude de la composition chimique de la feuille de Romarin a permis de mettre en évidence l'existence des éléments suivants :

- Des éléments minéraux : Na, K, Ca, Mg, SiO_2 , Cl_2 , PO_4 , NO_3 , SO_4 ;
- Des acides organiques : citrique, glycolique, glycérique;
- Un mucilage, un tanin mixte, un stérol;
- De la choline, mais pas d'alcaloïdes;
- Deux hétérosides. L'un non azoté fournissant par hydrolyse une matière polyphénolique, un acide et du glucose. L'autre azoté fournissant par hydrolyse une matière polyphénique, du glycone, et un corps précipitant avec les réactifs de Bouchardat et silicotungstique. Ce deuxième corps présente un certain pouvoir aphrogène, mais ne peut être considéré comme un saponoside.

En l'absence de tout autre nom, nous proposons d'appeler le corps A: Romaroside, et le corps B: Romarinoside.

Étude Pharmacodynamique

Le Romarin, nous rapporte le Dr. LECLERC, est « un simple doué de propriétés stimulantes incontestables. Le Professeur G. PARTURIER et M. P. ROUSSELLE, à la suite de tubages du duodénum, lui ont reconnu une action cholérétique se traduisant par des modifications assez marquées de la bile B qui tend à s'éclaircir et à augmenter de quantité, action qui en légitime l'emploi, prise avant les repas, dans les cholécystites chroniques, les petites ascites avec gros foie, les cirrhoses de Laënnec, les ictères par hépatite et obstruction » (10).

Dans son formulaire de Phytothérapie, le Dr. DECAUX nous fixe son emploi comme stimulant, stomachique, cholérétique et propose son usage en infusion à 5 p. 100 ou sous forme d'extrait fluide aux doses de 3 à 5 grammes (6). L'action expérimentale du Romarin sur la cholérèse a été étudiée par CHABROL, CHARONNAT et leurs collaborateurs. Ces auteurs ont constaté que l'essence était inactive et que la décoction aqueuse après précipitation plombique n'agissait plus. Ils attribuent l'action des préparations aqueuses à un principe actif qui doit être, disent-ils, apparenté aux acides phénols (4).

Nous rapportons ici les expériences effectuées

- sur la cholérèse du chien chloralosé
- sur la glycémie du lapin

et des essais effectués en vue de rechercher :

- le pouvoir anthelminitique
- le pouvoir bactéricide.

I. — ACTION SUR LA CHOLERESE DU CHIEN CHLORALOSE

Ces expériences ont été réalisées avec :

- une infusion de romarin frais
- le produit de la défécation magnésienne
- le romarinoside impur et pur
- le romarosite.

La technique utilise le protocole classique : chiens anesthésiés au chloralose (0,13 p.K.), ligature du canal cystique à la base de la vésicule, fistule cholédocienne qui permet de recueillir la bile émise pendant des périodes de 20 minutes avant et après l'administration du produit par voie intrasaphène. On ne commence à recueillir la bile que 2 heures après l'injection du chloralose dont l'effet cholérétique est connu.

Voici les expériences réalisées :

Chien n° 1 (14 Kgs chloralose 0,13 p.K.)

cholérèse normale de 20' : 2 cm³

après injection intraveineuse de 0,50 cm³ p.K. d'infusion de romarin frais à 50 p. 100 d'eau : 1 cm³ = 1 gr. de plante fraîche.

1^{re} période de 20' : 3 cm³

2^e période de 20' : 2,40 cm³

Nouvelle injection du même produit à la même dose :

1^{re} période de 20' : 2 cm³

2^e période de 20' : 2 cm³.

Action cholérétique nette et immédiate (+ 50 p. 100) mais assez fugace.

Chien n° 2 (16 Kgs chloralose 0,13 p.K.)

cholérèse normale de 20' : 4 cm³

Injection intraveineuse de 3 cm³ de la solution d'extrait magnésien (1 cm³ = 2,5 gr. de drogue) :

cholérèse de 20' : 3 cm³.

Pas d'action cholérétique.

Chien n° 3 (6 Kgs chloralose 0,13 p.K.)

cholérèses normales par périodes de 20' : 1,50 cm³
1,40 cm³

Injection intraveineuse de 2 cg. p.K. de romarinose impur en solution à 10 p. 100 :

cholérèse de 20' : 2,1 cm³
1,6 cm³

2^e injection intraveineuse de 2 cg. p.K. :

cholérèse de 20' : 1,40 cm³
1,50 cm³
1 cm³

Action cholérétique (+ 33 %) rapide mais ne durant pas.

Chien n° 4 (7 Kgs chloralosé 0,12 p.K.).

cholérèses normales par périodes de 20' : 1,50 cm³
1,25 cm³

Injection intraveineuse de 2 cg. p.K. de romarinoside en solution à 2 p. 100 :

cholérèses de 20' : 2,25 cm³
2 cm³
1,50 cm³

Injection intraveineuse de 4 cg. p.K. de romarinoside en solution à 2 p. 100 :

cholérèses de 20' : 2 cm³
2,50 cm³
3 cm³
1,50 cm³

Action cholérétique nette (+ 100 p. 100) et un peu plus prolongée que la précédente.

Chien n° 5 (11 Kgs chloralosé 0,12 p.K.)

cholérèses normales par périodes de 20' : 4 cm³
4 cm³

Injection intraveineuse de 1 cg. p.K. de romaroside à 20 % :

cholérèses de 20' : 4 cm³
3,50 cm³

Nouvelle injection de la même dose :

cholérèse de 20' : 2,75 cm³

Pas d'action cholérétique.

Chien n° 6 (7 Kgs chloralosé 0,12 p.K.).

Enregistrement par les procédés classiques de :

- la pression carotidienne
- les mouvements de l'intestin in situ
- les mouvements respiratoires.

Injection intrasaphène de 2 cg. p.K. de romaroside à 2 %; on constate :

- une chute transitoire de la pression carotidienne
- un arrêt des mouvements intestinaux
- une très brève accélération respiratoire.

Nouvelle injection intrasaphène de 4 cg. p.K. du même produit :
mêmes actions (plus accentuées) que précédemment.

Il nous paraît donc que seuls des produits essayés sur la cholérèse du chien chloralosé sont actifs :

- l'infusion de romarin frais
- le romarinoside.

II. — ACTION SUR LA GLYCEMIE

Nous nous sommes inspirés de la technique utilisée par Madame VIEU-BONNAFOUS (16) sur le chien. Cet auteur a montré que dans l'épreuve d'hyperglycémie provoquée, le maximum atteint se situe 2 h. 30 environ après l'administration du glycose.

Technique. — L'animal utilisé est le lapin. La glycémie dans tous les cas a été évaluée par la méthode colorimétrique de Folin-Wu en utilisant la photolorimétrie. La prise de sang est effectuée dans la veine marginale de l'oreille. L'animal est laissé à jeûn durant 24 heures et la glycémie est alors déterminée. Puis, au moyen d'une sonde gastrique, on lui administre per os 5 grammes de glycose et détermine la glycémie 2 h. 10, 3 h., 4 h. après.

Les résultats obtenus sont les suivants :

	I	II	III
	—	—	—
à jeûn	1,22	1,08	1,19
2 h. 10'	1,38	1,18	1,33
3 h.	1,29	1,08	1,22
4 h.	1,19		1,10
	13 %	9 %	12 %

Dans une 2^e et 3^e série d'expériences, nous avons, en nous servant de ces lapins testés, administré per os en même temps que le glycose 5 cm³ d'une solution à 2 % de Romaroside, puis de Romarinoside.

Voici les résultats obtenus :

	(Romarinoside)		
	I	II	III
	—	—	—
à jeûn	1,18	1,04	1,23
2 h. 10'	1,33	1,13	1,36

Ce qui laisse entendre que le Romarinoside ne possède aucun pouvoir hypoglycémiant.

(Romaroside)

	I	II	III
à jeûn	1,24	1,04	1,18
2 h. 10'	1,13	0,96	1,11
	— 8 %	— 8 %	— 6 %

Ceci prouve l'activité très nette du Romaroside sur l'épreuve d'hyperglycémie provoquée, puisque non seulement celle-ci est supprimée, mais qu'en outre s'installe une phase d'hypoglycémie très nette.

Des deux hétérosides essayés, l'un, le Romaroside, est hypoglycémiant, l'autre, le Romarinoside, est sans action sur la glycémie.

III. — ETUDE DU POUVOIR ANTHELMINTIQUE

Des essais ont été pratiqués in vitro en utilisant d'une part, le ver de terre : *Lumbricus terrestris* L., d'autre part, le Strongle du cheval : *Strongyloïdes stercoralis* Bavay.

1. - Essais sur le ver de terre. — On opère avec des vers dont le poids varie entre 2,50 gr. et 3,50 gr.

Les vers sont immergés à la température du laboratoire dans les solutions du corps à étudier pendant une durée variable. Au bout d'un temps déterminé, ils sont retirés de la solution et plongés dans l'eau. Le résultat est lu 24 heures après le début de l'expérience. Un ver témoin placé dans l'eau, et dans les mêmes conditions expérimentales, survit après 24 heures d'immersion.

A) Essai sur le Romaroside.

Titre de la solution	Temps d'immersion	Etat
2 p. 100	30'	mort
	1 h.	»
	1 h. 30'	»
1 p. 100	30'	mort
	1 h.	»
	1 h. 30'	»
0,50 p. 100	30'	vivant
	1 h.	»

B) Essai sur le Romarinoside.

Les vers plongés dans une solution à 2 p. 100 durant 30', 1 heure et 2 heures demeurent vivants. Ce qui laisse entendre que cet hétéroside, à l'encontre du Romaroside, ne possède aucune activité anthelminthique.

Devant ces constatations, seuls des essais avec le Romaroside ont été pratiqués sur le Strongle du cheval.

2. - Essais sur le Strongle du cheval. — Sous sa forme libre, ce ver existe dans les substances en décomposition, les matières fécales et surtout le crottin du cheval.

Une prise de crottin est diluée dans l'eau distillée. On examine cette préparation à la loupe (grossissement 15). On distingue de petits vers qu'on isole en les aspirant avec une pipette Pasteur. On les place sur verre de montre et ajoute la solution du produit à étudier. Après un certain temps de contact on examine à nouveau à la loupe.

Un témoin est placé dans l'eau distillée.

Essai sur le Romaroside.

Nombre de gouttes de la solution	Temps d'immersion	Etat
XX de la solution à 1 %	3 h.	vivant
	17 h.	»
	24 h.	»
X et XX de la solution à 2 %	3 h.	vivant
	17 h.	»
	24 h.	»

En conclusion, des deux hétérosides utilisés, seul le Romaroside présente in vitro un certain pouvoir anthelminthique qui s'exerce vis-à-vis du ver de terre, mais non du Strongle du cheval.

IV. — ETUDE DU POUVOIR BACTERICIDE

Nous avons expérimenté in vitro les deux hétérosides sur un staphylocoque (souche Fleming), le colibacille et le bacille typhique.

La détermination de la croissance microbienne a été appréciée en milieu liquide par la mesure de la densité optique à l'aide de l'électrophoto-

mètre « Electrosynthèse » écran n° 0 au temps 0, c'est-à-dire immédiatement après ensemencement et au bout de 24 et 48 heures de séjour à l'étuve à 37°.

A la concentration de 1/500, aucun des deux corps étudiés n'a présenté la moindre action sur les germes utilisés.

CONCLUSION

Des corps retirés du Romarin, seuls l'infusion et le Romarinoside nous ont paru actifs sur la cholérèse du chien chloralosé ; sur l'hyperglycémie provoquée du lapin, le Romaroside paraît hypoglycémiant, l'autre glycosidé sans action.

On retrouve encore un certain pouvoir anthelmintique chez le Romaroside vis-à-vis du seul ver de terre.

CONCLUSIONS GÉNÉRALES

Nous avons déjà donné à la fin de chaque paragraphe un petit résumé comportant l'essentiel des résultats obtenus et nous ne ferons ici que répéter sommairement quelques données fondamentales :

Le Romarin « simple » actif et anodin a été utilisé depuis le début de l'ère thérapeutique, nous l'avons rappelé dans l'introduction de ce travail en même temps que nous avons donné la description morphologique et anatomique de la drogue. L'étude chimique que nous rapportons ensuite a montré qu'en dehors de l'essence, cette plante est riche en constituants divers.

La présence de 2 hétérosides a été mise en évidence : ils ont été désignés sous les termes de Romaroside et Romarinoside.

Ces hétérosides ont été essayés sur certains tests physiologiques dont la cholérèse du chien chloralosé est le plus important, il semble là que le Romarinoside soit le plus actif, mais il est probable que placés dans leur milieu primitif (la plante totale) tous ces corps identifiés (acides, hétérosides) agissent en synergie, comme cela se constate dans la plupart des drogues végétales.

Lu,
Le Président du Jury :
J. DELPHAUT

Vu et approuvé,
Pour le Doyen,
L'assesseur :
J. DELPHAUT

Vu et permis d'imprimer

Aix, le 17 Juin 1953

Le Recteur :
J. BLACHE

BIBLIOGRAPHIE

1. -- BALANSARD (J.) et BERNARD (P.) - *Notes pratiques de Chimie végétale - Médecine Tropicale* - 1950, n° 6.
2. --- BONNIER (G.) - *Flore complète illustrée en couleurs de France, Suisse et Belgique* (E. Orlhac Edit.), Paris t. 8, p. 119.
3. -- CAZIN (F. S.) - *Traité pratique et raisonné des Plantes Médicinales indigènes* (P. Asselin édit.), 3^e édition revue par CAZIN (H.), Paris 1868, p. 920.
4. — CHABROL (E.), CHARONNAT (R.), MAXIMIN (M.) et BUS-SON (A.) - *L'action cholérétique des Labiées* - C. R. Soc. Biol. 1932, t. 109, p. 275.
5. — *Codex medicamentarius Gallicus* (7^e édit.), Paris 1949, p. 707.
6. — DECAUX (F.) - *Formulaire de Phytothérapie* (Amédée Le Grand et Jean Bertrand édit.), Paris 1944, p. 133.
7. — DALECHAMP (JACQUES) et Des MOULINS (JEAN) - *Histoire générale des Drogues* (Borde édit.), Lyon 1653, t. I., p. 615, 657 et 842.
8. — *L'école de Salerne* (J.-B. Bailliére et fils édit.), trad. en vers par Charles Meaux Saint-Marc, Paris 1880, p. 126.
9. — FOUSCH (LEONARTH). - *Commentaires très excellens de l'hystoire des plantes* (Jacques GAZEAU édit.), traduit en langue française par un homme sçavant et bien expert en la matière. - Paris 1549, chap. CLXXXI.
10. --- LECLERC (H.). - *Précis de Phytothérapie* (Masson et Cie édit.), 5^e édit. Paris 1935, p. 151.
11. — MATTHIOLE (*Commentaires de*). - (Guillaume Rouille édit.), mis en français par Jean des Moulins, Lyon 1572, p. 446.

12. — MAVERIC (Jean). - *La médecine hermétique des plantes* (Dorbon aîné édit.), Paris, p. 20, 25, 30, 50.
 13. — D'ORBIGNY (CHARLES). - *Dictionnaire universel d'Histoire Naturelle* (Renard, Martinet et Cie édit.), Paris 1849, t. II, p. 195.
 14. — PERROT (EM.). - *Matières premières usuelles du règne végétal* (Masson édit.), Paris 1943-44, p. 2018.
 15. — POURRAT (H.) et LE MEN (J.). - *Répartition de l'acide urso-lique chez les Labiées* - Ann. Pharm. Franç. 1953, t. II, p. 190.
 16. — VIEU-BONNAFOUS (Mme JACQUELINE). - *Contribution à l'étude expérimentale de quelques drogues végétales hypoglycémiantes*. - Thèse Doct. (Univ.) Pharm. Marseille 1939.
-

TABLE DES MATIÈRES

Historique et introduction	Page	9
Etude botanique	»	13
Etude chimique	»	17
Recherches personnelles.....	»	19
Etude pharmacodynamique.....	»	25
Conclusions générales	»	33
Bibliographie	»	34
